

**FRAKSINASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA  
ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK ETANOL DAUN PACAR  
KUKU (*Lawsonia inermis* Linn.) SECARA KOLOM  
KROMATOGRAFI**



**ENDANG DWI SETYANINGRUM  
2443009113**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA**

**2013**

**LEMBAR PERSETUJUAN  
PUBLIKASI KARYA ILMIAH**

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi/karya ilmiah saya dengan judul : **Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Antioksidan pada Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku (*Lawsonia inermis* linn.) Secara Kolom Kromatografi** untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu *Digital Library* Perpustakaan Unika Widya Mandala Surabaya untuk kepentingan akademik sebatas sesuai dengan Undang-Undang Hak Cipta.

Demikian pernyataan persetujuan publikasi karya ilmiah ini saya buat dengan sebenarnya.

Surabaya, 14 Februari 2013



**Endang Dwi Setyaningrum**  
2443009113

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa hasil tugas akhir ini adalah benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri. Apabila di kemudian hari diketahui bahwa skripsi ini merupakan hasil plagiarisme, maka saya bersedia menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan dan atau pencabutan gelar yang saya peroleh.

Surabaya, 14 Februari 2013

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Endang Dwi Setyaningrum', with a horizontal line underneath.

Endang Dwi Setyaningrum  
2443009113

**FRAKSINASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA  
ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK ETANOL DAUN PACAR  
KUKU (*LAWSONIA INERMIS* LINN.) SECARA KOLOM  
KROMATOGRAFI**

**SKRIPSI**

Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan  
memperoleh gelar Sarjana Farmasi  
di Fakultas Farmasi Unika Widya Mandala Surabaya

**OLEH:**

**ENDANG DWI SETYANINGRUM  
2443009113**

Telah disetujui tanggal 05 Februari 2013 dan dinyatakan **LULUS**

Pembimbing I,



Sumi Wijaya, S.Si., Ph.D., Apt.  
NIK. 241.03.0558

Pembimbing II,



Henry Kurnia S, S.Si., M.Si., Apt.  
NIK. 241.97.0283

## ABSTRAK

### **FRAKSINASI DAN IDENTIFIKASI SENYAWA ANTIOKSIDAN PADA EKSTRAK ETANOL DAUN PACAR KUKU (*Lawsonia inermis* Linn.) SECARA KOLOM KROMATOGRAFI**

Endang Dwi Setyaningrum  
2443009113

Pada penelitian ini dilakukan fraksinasi dan identifikasi senyawa antioksidan pada ekstrak etanol daun pacar kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) secara kolom kromatografi. Metode ekstraksi menggunakan metode perkolasi. Serbuk diekstraksi dengan etanol 96% lalu diuapkan hingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental difraksinasi dengan metode kolom kromatografi dengan menggunakan eluen kloroform : etil asetat. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*). Berdasarkan pada hasil fraksinasi dan identifikasi dengan spektrofotometer UV- Vis didapatkan bahwa fraksi etanol terpilih memberikan serapan maksimum 236,5 nm (Pita II) yang dapat menunjukkan bahwa senyawa metabolit sekunder fraksi etanol adalah flavonoid. Ekstrak etanol memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai  $IC_{50}$  0,2421 mg/ml sedangkan fraksi etanol mempunyai daya antioksidan lebih besar dengan nilai  $IC_{50}$  0,1671 mg/ml.

Kata kunci : daun pacar kuku, *Lawsonia inermis*, kromatografi kolom, DPPH dan antioksidan.

## ABSTRACT

### **FRACTIONATION AND IDENTIFICATION OF ANTIOXIDANT COMPOUND IN ETHANOL EXTRACT OF *Lawsonia inermis* Linn. LEAVES USING COLUMN CHROMATOGRAPHY**

Endang Dwi Setyaningrum  
2443009113

In this research fractionation and identification of antioxidant compounds in ethanol extract of henna leaves (*Lawsonia inermis* Linn.) by column chromatography was conducted. Extract was made using a percolator. The dried leaves was extracted using 96% ethanol. Thick extract was fractionated by column chromatography using chloroform: ethyl acetate as the mobile phase. The antioxidant potential was tested using DPPH method. Based on the fractionation and identification with *spectrofotometer UV-Vis* results, it was shown that the isolated compounds gave maximum absorption 236,5 nm (Band II), which might indicate that the secondary metabolite is flavonoid. The ethanol extract had antioxidant activity with IC<sub>50</sub> value of 0,2421 mg / ml, while the fraction of ethanol has greater antioxidant activity with value of IC<sub>50</sub> 0,1671 mg / ml.

Key words : henna leaves, *Lawsonia inermis*, IC<sub>50</sub>, column chromatography, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) and antioxidant.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur dan terima kasih kepada Allah SWT atas segala karunia, hikmat dan kekuatan sehingga dapat terselesaikan skripsi yang berjudul Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Antioksidan pada Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku (*Lawsonia inermis* Linn.) secara Kolom Kromatografi. Penyusunan skripsi ini dilakukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana pada Fakultas Farmasi Universitas Widya Mandala Surabaya.

Penyusunan skripsi ini tidak akan dapat terselesaikan tanpa bantuan dan kerjasama dari banyak pihak, baik dari dalam maupun luar universitas. Oleh karena itu penyusun mengucapkan banyak terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu, diantaranya:

1. Sumi Wijaya, S.Si., Ph.D., Apt, selaku dosen pembimbing I dan Henry Kurnia S, S.Si., M.Si., Apt., selaku dosen pembimbing II yang telah banyak meluangkan waktu dan tenaga untuk memberikan bimbingan, memberikan saran-saran, pemikiran yang sangat berguna selama penelitian, memotivasi dan mengajarkan banyak hal yang berharga hingga terselesainya skripsi ini.
2. Lucia Hendriati, S.Si., M.Sc., Apt., selaku penasehat akademik yang telah memberikan waktu, pikiran, dan mendorong terselesainya skripsi ini.
3. Dra Monica, W. S., M.Sc., Apt., dan Lisa Soegianto, M.Si., Apt., selaku tim dosen penguji.
4. Martha Ervina, S.Si., M.Si., Apt., selaku Dekan Fakultas Farmasi dan seluruh staf pengajar Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya yang telah memberikan bantuan selama ini.

5. Ketua Laboratorium Teknologi Formulasi Bahan Alam, Koordinator laboratorium Instrumen, Ketua Laboratorium Kimia Klinik dan Biokimia dan Ketua Laboratorium Farmakognosi Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya yang telah memberikan bantuan dalam hal peminjaman peralatan dan tempat untuk melaksanakan penelitian ini.
6. Para laboran (Bu Tyas, Bu Mega, Pak Rendi dan Pak Tri) yang telah memberikan semangat dan bekerjasama selama proses penelitian ini.
7. Seluruh staf Tata Usaha dan Laboran Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya yang telah membantu pada proses penelitian ini.
8. Bapak Sutomo, Ibu Dwi Suryaningsih tercinta, yang telah menghadirkan saya di dunia ini, menjaga, membesarkan saya sampai sekarang dengan kasih sayang, cinta yang tulus, serta selalu mendukung secara moril dan material yang sangat berarti bagi saya dalam menyelesaikan skripsi ini. Untuk kakak dan keluarga besarku yang telah memberikan semangat dan doa.
9. Mauliyah Intifail Insie, Ega Tursiana Dewi, Emilia Puspita K. S., Aprilini Fransisca, Margareth K. Ceme, Diyan Maya Sari, Diga Albrian dan Nur Aida Fitri selaku teman-teman yang selalu mendukung saya dalam pelaksanaan penelitian ini.

Pada penyelesaian skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, oleh karena itu mengharapkan penelit-peneliti yang ingin melanjutkan skripsi ini dapat memberikan peningkatan dari penelitian ini menjadi lebih baik lagi. Akhir kata penyusun mengharapkan naskah skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi masyarakat luar dan farmasi khususnya.

Surabaya, Februari 2013



## DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK .....	i
ABSTRACT .....	ii
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR ISI .....	v
DAFTAR TABEL .....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	ix
DAFTAR LAMPIRAN .....	xii
BAB	
1 PENDAHULUAN .....	1
2 TINJAUAN PUSTAKA .....	8
2.1. Tinjauan tentang Radikal Bebas .....	8
2.2. Tinjauan tentang Antioksidan.....	12
2.3. Tinjauan tanaman Pacar Kuku ( <i>Lawsonia inermis</i> , Linn) .....	15
2.4. Tinjauan tentang Ekstraksi .....	17
2.5. Parameter dan Metode Uji Ekstrak .....	20
2.6. Skrinning Kualitatif secara Fitokimia .....	22
2.7. Tinjauan tentang Flavonoid.....	22
2.8. Tinjauan tentang Tanin .....	23
2.9. Metode Pemisahan.....	24
2.10. Identifikasi Golongan Senyawa.....	28
2.11. Analisa Daya Antioksidan.....	31
3 METODE PENELITIAN .....	34
3.1. Bahan dan Alat .....	34
3.2. Metode Penelitian .....	35

	Halaman
3.3. Rancangan Penelitian.....	35
3.4. Tahapan Penelitian.....	37
3.5. Skema Kerja.....	44
4 HASIL PERCOBAAN DAN BAHASAN.....	45
4.1. Hasil Determinasi Tanaman Pacar Kuku .....	45
4.2. Hasil Penetapan Standarisasi Simplisia Daun Pacar Kuku .....	46
4.3. Hasil Rendemen Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku ...	48
4.4. Hasil Penetapan Standarisasi Ekstrak Etanol Dau Pacar Kuku.....	49
4.5. Hasil Penentuan Fase Gerak dengan Menggunakan Metode KLT.....	51
4.6. Hasil Pemisahan KLT Ekstrak Etanol.....	56
4.7. Hasil Fraksinasi Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku dengan Menggunakan Metode Kromatografi Kolom.	58
4.8. Identifikasi Golongan Senyawa.....	66
4.9. Hasil Penentuan Uji Daya Antioksidan menggunakan DPPH 0,2% .....	81
5 KESIMPULAN DAN SARAN .....	91
5.1. Kesimpulan .....	91
5.2. Saran .....	91
DAFTAR PUSTAKA .....	92

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1. Rentangan Serapan Spektrum UV-Vis Flavonoid.....	29
3.1. Jenis-jenis eluen yang digunakan.....	40
4.1. Hasil pemeriksaan susut pengeringan dan kadar abu serbuk daun Pacar Kuku.....	47
4.2. Hasil Skrining Kualitatif Fitokimia Serbuk Daun Pacar Kuku.....	47
4.3. Hasil Pemeriksaan Kadar Air dan Kadar Abu Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku.....	49
4.4. Hasil Skrining Kualitatif Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku.....	50
4.5. Profil KLT Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku dengan Beragam Komposisi atau jenis Eluen.....	54
4.6. Profil KLT Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku dengan berbagai eluen yang diamati dengan UV 254 nm, UV 366 nm dan disemprot DPPH 0,2%.....	56
4.7. Hasil Fraksinasi Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku dengan Metode Kolom Kromatografi.....	58
4.8. Profil KLT Fraksi-fraksi Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku yang Diamati dengan UV 254 nm, UV 366 nm dan Penyemprotan DPPH 0,2% dengan eluen Kloroform : Etil asetat (5:5).....	62
4.9. Profil KLT Fraksi no.65 yang diamati dengan UV 254 nm, UV 366 nm dan Penyemprotan DPPH 0,2%.....	64
4.10. Hasil Skrining Kualitatif secara Fitokimia Golongan/senyawa Terduga dari Fraksi Berkumpul.....	67
4.11. Profil KLT Fraksi Berkumpul dari Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku dengan Berbagai Komposisi atau Jenis Eluen yang Diamati pada UV 254 nm, 366 nm dan DPPH 0,2%....	73
4.12. Spektrum UV-Vis dari Ekstrak dan Fraksi no. 65.....	79

Tabel	Halaman
4.13. Identifikasi puncak spektrum IR Fraksi no. 65 dari Ekstrak Etanol Daun .....	54
4.14. Hasil Penentuan $IC_{50}$ Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku menit ke-0 .....	84
4.15. Hasil Penentuan $IC_{50}$ Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku menit ke-30 .....	85
4.16. Hasil Penentuan $IC_{50}$ Berbagai Konsentrasi Quercetin pada menit ke-0 .....	86
4.17. Hasil Penentuan $IC_{50}$ Berbagai Konsentrasi Quercetin pada menit ke-30 .....	87
4.18. Hasil Penentuan $IC_{50}$ Berbagai Konsentrasi Fraksi no. 65 pada menit ke-0 .....	88
4.19. Hasil Penentuan $IC_{50}$ Berbagai Konsentrasi Fraksi no. 65 pada menit ke-30 .....	89

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Daun Pacar Kuku ( <i>Lawsonia inermis</i> , Linn.).....	16
2.2. Struktur Umum Flavonoid .....	23
2.3. Struktur Umum DPPH.....	31
4.1. Tanaman Pacar Kuku ( <i>Lawsonia inermis</i> , Linn.).....	45
4.2. Skrining Kualitatif Fitokimia Serbuk Daun Pacar Kuku.....	48
4.3. Skrining Kualitatif Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku.....	50
4.4. Hasil Pengamatan KLT Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku pada UV 254 nm dan UV 366 nm .....	51
4.5. Hasil Pengamatan KLT Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku pada UV 254 nm dan UV 366 nm .....	52
4.6. Hasil Pengamatan KLT Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku pada UV 254 nm dan UV 366 nm .....	52
4.7. Hasil Pengamatan KLT Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku pada UV 254 nm dan UV 366 nm .....	53
4.8. Hasil Pengamatan KLT Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku pada UV 254 nm dan UV 366 nm .....	53
4.9. Hasil Pengamatan KLT Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku pada UV 254 nm dan UV 366 nm .....	54
4.10. Hasil Pemisahan KLT Ekstrak Etanol .....	57
4.11. Profil KLT Fraksi-fraksi Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku yang Diamati dengan UV 254 nm dengan Eluen Kloroform : Etil asetat (5:5).....	59
4.12. Profil KLT Fraksi-fraksi Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku yang Diamati dengan UV 366 nm dengan Eluen Kloroform : Etil Asetat .....	60
4.13. Profil KLT Fraksi-fraksi Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku yang Diamati setelah Penyemprotan DPPH 0,2 % .....	61

Gambar	Halaman
4.14. Profil KLT Fraksi no.65 yang diamati dengan UV 254 nm, 366 nm dan penyemprotan DPPH 0,2% dengan eluen Kloroform : etanol (5:5; 9:1).....	64
4.15. Hasil Skrining Kualitatif secara Fitokimia Golongan atau Senyawa Terduga dari Fraksi Terkumpul.....	67
4.16. Profil KLT Fraksi Terkumpul dari Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku dengan Berbagai Komposisi atau Jenis Eluen yang Diamati pada UV 254 nm.....	70
4.17. Profil KLT Fraksi Terkumpul dari Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku dengan Berbagai Komposisi atau Jenis Eluen yang Diamati pada UV 366 nm.....	71
4.18. Profil KLT Fraksi Terkumpul dari Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku dengan Berbagai Komposisi atau Jenis Eluen setelah Penyemprotan DPPH 0,2%.....	72
4.19. Hasil Penyemprotan KLT dengan $AlCl_3$ .....	76
4.20. Spektrum UV-Vis Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku .....	77
4.21. Spektrum UV-Vis Fraksi no. 65 dari Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku.....	78
4.22. Spektrum UV-Vis Fraksi no. 65 dari Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku ditambah Pereaksi Geser $AlCl_3$ .....	78
4.23. Hasil Analisa <i>Infra red</i> Fraksi no. 65.....	80
4.24. Grafik regresi linier hubungan konsentrasi ekstrak daun pacar kuku (mg/ml) dengan persen aktivitas antioksidan pada menit ke-0.....	83
4.25. Grafik regresi linier hubungan konsentrasi ekstrak daun pacar kuku (mg/ml) dengan persen aktivitas antioksidan pada menit ke-30 .....	84
4.26. Grafik regresi linier hubungan konsentrasi quercetin (mg/ml) dengan persen aktivitas antioksidan pada menit ke-0 .....	85
4.27. Grafik regresi linier hubungan konsentrasi quercetin (mg/ml) dengan persen aktivitas antioksidan pada menit ke-30.....	86

Gambar	Halaman
4.28. Grafik regresi linier hubungan konsentrasi fraksi no. 65 (mg/ml) dengan persen aktivitas antioksidan pada menit ke-0 .....	87
4.29. Grafik regresi linier hubungan konsentrasi fraksi no. 65 (mg/ml) dengan persen aktivitas antioksidan pada menit ke-30.....	88

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
A Skringing Fitokimia.....	98
B Langkah Kerja Alat Multiskan Go .....	99
C Sertifikat Determinasi Tanaman Pacar Kuku .....	100
D Perhitungan Rendemen Ekstrak .....	101
E Cara Perhitungan Kadar Abu Simplisia .....	102
F Cara Perhitungan Kadar Abu Ekstrak.....	104
G Hasil Perhitungan Aktivitas Antioksidan (%) berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Pacar Kuku pada menit ke-0 dan menit ke-30.....	
H Hasil Perhitungan Aktivitas Antioksidan (%) berbagai Konsentrasi Quercetin pada menit ke-0 dan menit ke-30 .....	107
I Hasil Perhitungan Aktivitas Antioksidan (%) berbagai Konsentrasi Fraksi no. 65 pada menit ke 0 dan menit ke-30.	108
J Cara Perhitungan Kadar Air Ekstrak .....	109
K Tabel Korelasi (r) .....	111
L Penafsiran spektrum $AlCl_3$ .....	112
M Pita Absorpsi Inframerah .....	113